Aus dem Zoologischen Institut der Universität Rostock

# Neue Versuche zur Züchtung der im Pansen von Wiederkäuern lebenden Ophryoscoleciden (Ciliata)

**Inaugural-Dissertation**

zur Erlangung der Philosophischen Doktorwürde
der Philosophischen Fakultät
der Universität Rostock

vorgelegt von

**Dr. med. vet. Max Knoth**

Sonderabdruck aus
Zeitschrift für Parasitenkunde, Bd. 1 Heft 2

Verlagsbuchhandlung Julius Springer in Berlin
1928

BIBLIOTHEEK RIJKS UNIV LEIDEN

## Einleitung.

Die Züchtung der besonders im Pansen von Wiederkäuern und im Blinddarm von Einhufern lebenden Ophryoscoleciden ist noch nicht gelungen. Seit der Entdeckung der Ciliaten im Pansen des Rindes durch GRUBY und DELAFOND im Jahre 1843 haben sich die Forscher meist auf die morphologische Untersuchung dieser Protozoen beschränkt.

Der Entwicklungskreis der Ophryoscoleciden ist wahrscheinlich immer noch nicht völlig erkannt, da Dauerformen außerhalb des Wirtstieres bisher nicht einwandfrei nachgewiesen worden sind. Auch die Frage der Bedeutung der Ciliaten für den Wirt ist nicht befriedigend geklärt. Handelt es sich um Kommensalen, Symbionten oder Parasiten?

In der vorliegenden Arbeit soll über Züchtungsversuche an Ophryoscoleciden berichtet werden. Die Vorteile der Züchtung sind mannigfache. Die Physiologie der Ernährung und der Fortpflanzung ist in Kulturen besser zu studieren, und durch eingehende Kenntnis der physikalischen und chemischen Beschaffenheit des Umweltraumes der Ophryoscoleciden und seinen Einfluß auf ihre Ernährung ist vielleicht auch die Bedeutung dieser Organismen für den Wirt zu enträtseln. Darüber hinaus aber könnten hier Züchtungsversuche unter Umständen einen wichtigen Beitrag liefern zu der Frage der Züchtbarkeit von Innenparasiten überhaupt, die, wenn auch meist schwer zu lösen, doch eine unbedingt nötige Vorstufe für jede experimentelle Arbeit ist. Bei den bisherigen Züchtungsversuchen mit Ophryoscoleciden ist der Umstand unbeachtet geblieben, daß es sich offenbar um anaerob lebende Organismen handelt (BIEDERMANN, P. SCHULZE).

## Literatur.

Die Züchtung saprophytischer Infusorien ist leicht, und es sind bereits bakterienfreie Reinzuchten möglich. OEHLER legte sogenannte gereinigte Ciliatenzuchten mit *Colpoda* an, indem er als Nährbakterien nur eine Bakterienart beigab. In bakterienfreien Reinzuchten benutzte OEHLER als Nahrung fein zerriebenes

Muskelfleisch vom Stockfisch, fein zerriebenes Eiweißpulver sowie die Eiweißkörper Casein und Edestin. Hinsichtlich der Züchtung der im Darm lebenden Infusorien liegen verschiedene Angaben vor. Walker beobachtete *Nictotherus parvus* und *multiporiferus* aus dem Darm vom Schwein und *Balantidium falciformis* in sogenannten gemischten Reinkulturen in alkalischem Agar. Temperaturen von 20—25° C erwiesen sich für die Züchtung der Ciliaten ebenso wie für die von Amöben geeigneter als solche von 37° C. Dobell sah Formen der gleichen Gattungen in Kotinfusionen sich lebhaft vermehren und lange Zeit darin leben. Aragao gelang die Züchtung von *Nyctotherus cordiformis*, einem Darmparasiten des Frosches, in physiologischer Kochsalzlösung mit 0,5% Hühnereiweiß und roten Blutkörperchen als Futter. Die Züchtungsversuche von *Balantidium coli* durch Bowan, George und Couret sowie Glaessner fielen negativ aus. Prowazek beobachtete in einigen Fällen eine Vermehrung des *Balantidium coli* in mit physiologischer Kochsalzlösung stark verdünnten Fäces in feuchter Kammer, während Kulturversuche mit Peptonwasser, Bouillon, Agar-Agar, Blutagar, Pferdeserum und anderem negative Ergebnisse lieferten. Mit Fäcesverdünnungen als Nahrungsmittel wollen Sangiori und Senez Erfolge erzielt haben. Nach Hinkelmann soll *Balantidium coli* in destilliertem Wasser und Zusatz von 0,5% Serum oder Blut leicht züchtbar sein. Nöller macht nun darauf aufmerksam, daß es sich vielleicht bei manchen dieser Arten um saprophytische Infusorien gehandelt hat, und die positiven Ergebnisse von Hinkelmann bei der Züchtung von *Balantidium coli* erklärt Braun damit, daß die Balantidien irgendwie in die Kultur gelangte freilebende Infusorien gewesen seien. Barret und Yarbrough berichten von einer erfolgreichen 11maligen Übertragung des *Balantidium coli* während 32 Tagen. Bemerkenswert ist in dieser Arbeit die Angabe, daß die Organismen in Reagierröhrchen oder anderen Gefäßen, wenn sie etwa 5 cm in der Tiefe gehalten wurden, einen oder zwei Tage länger leben als an der Oberfläche. Auf Grund dieser Versuche erscheint die Annahme berechtigt, daß teilweise anaerobe Bedingungen das Wachstum von *Balantidium coli* begünstigen.

Züchtungsversuche mit den im Wiederkäuermagen lebenden Ciliaten sind von Coste, Edwards, Pouchet, Certes, Bundle, Günther, Schuberg, Eberlein, Liebetanz und Fiebiger angestellt worden. Coste berichtet als erster über gelungene Züchtungsversuche von Wimperinfusorien, die denen im Pansen von Schafen glichen. Die Kulturen waren Heuaufgüsse; die Infektion mußte mit Heu, Moos oder Blättern erfolgt sein. Coste hat Infuse, die bis zu 20 Tagen infusorienfrei waren, mit Infusorien beimpft und diese darin sich stark vermehren sehen. Edwards hat diese Versuche bestätigt. Leider beschreiben Coste und Edwards die Infusorien nicht näher, so daß aus ihren Angaben nicht hervorgeht, welche Arten sie gesehen haben. Pouchet konnte in Infusen auch bei längerer Bebrütung Infusorien daring nicht nachweisen. Certes will in Aufgüssen Organismen gefunden haben, die mit denen im Pansen vom Rind übereinstimmten. Bundle benutzte zur Züchtung Heuaufgüsse aus destilliertem Wasser, Flußwasser, Leitungswasser mit Pferdespeichel, filtriertem Magensaft und filtrierter Darmflüssigkeit. In einer zweiten Versuchsreihe brachte er in diese Infuse lebende Infusorien aus dem Blinddarm des Pferdes. Diese Versuche zeigten, daß die Infusorien in stark saurem Medium sich weder entwicklen noch darin längere Zeit leben können. Eberlein hat Kulturen aus Heu mit Leitungs- und destilliertem Wasser, ferner aus sterilisiertem Heu mit sterilisiertem und nichtsterilisiertem Leitungswasser angelegt. Je 2 g Heu in 150 ccm Flüssigkeit wurden 15 Tage bei 37—38° C bebrütet. Die tägliche Untersuchung ergab keine Infusorien. Günther, der mit totem Material ähnliche Versuche wie Eberlein ausführte, fand in den Infusen niemals die im Wiederkäuermagen vorkommenden Infusorien, und Fiebiger

konnte in Aufgüssen aus Heu und Stroh Eingeweideciliaten ebenfalls nicht nachweisen. SCHUBERG gelang es, Infusorien mindestens einen Tag, in seltenen Fällen 3 Tage lang am Leben zu erhalten. Nach dieser Zeit starben sie offenbar infolge Zersetzung des Magensaftes ab. LIEBETANZ weist darauf hin, daß bei der Züchtung parasitischer Protozoen des Wiederkäuermagens deren natürlichen Lebensbedingungen möglichst nachgeahmt werden müßten, und er hat sein besonderes Augenmerk darauf gerichtet, das Heu entsprechend den Veränderungen beim Kauakt zu behandeln. Das in einer Kaffeemühle zerkleinerte oder zwischen Steinen zerquetschte Heu wurde mit Menschen-, Pferde- oder Ziegenspeichel vermengt und zu Kulturen verwandt. Seine Versuche hatten jedoch ein negatives Resultat.

Alle diese Versuche zeigen, daß weder die Züchtung der Ophryoscoleciden aus totem Material einwandfrei gelungen noch ein langes Überleben dieser Protozoen in Infusen beobachtet worden ist.

In neuester Zeit hat TRIER in einer Arbeit über den Kohlehydratstoffwechsel der Panseninfusorien nebenbei feststellen können, daß *Diplodinium bursa* im Thermostaten im allgemeinen etwa noch 4 Tage in der künstlich nicht weiter beeinflußten Pansenflüssigkeit zu leben vermochte, während *Diplodinium longispinum* (= *eberleini* CUNHA) schon nach 2 Tagen starb. Die Infusorien lebten nach 36 Stunden, von der Zeit des Ausheberns aus dem Pansen an gerechnet, in einer Art Hungerzustand.

Da die Ophryoscoleciden nur in schwach alkalisch, neutral oder schwach sauer reagierendem Pansensaft zu leben vermögen, im Labmagen und im Darmkanal mit saurer Reaktion aber schnell sterben, so muß bei Züchtungsversuchen die Reaktion des Nährbodens Beachtung finden. Die Erklärung für den negativen Ausgang der Züchtungsversuche früherer Autoren kann, worauf SCHUBERG hinweist, darin gefunden werden, daß die Kulturmedien bei längerem Stehen sauer wurden. Der Tod der Infusorien tritt dadurch ein, daß die alkalische, neutrale oder schwach saure Reaktion des Pansensaftes infolge der auftretenden Gärungsprozesse in eine stark saure übergeführt wird. Der Reaktion des Pansensaftes, sofern dieser als Nährmedium benutzt wird, kommt demnach eine Bedeutung zu. BRESSLAU macht darauf aufmerksam, daß bei zoologischen Untersuchungen ebenso wie die Temperatur, so auch die Reaktion der Flüssigkeit beachtet und registriert werden müssen.

Über die Reaktion der Pansenflüssigkeit liegen verschiedene Mitteilungen vor. Die Reaktion wurde von früheren Untersuchern mit Lackmuspapier bestimmt, und in neuerer Zeit ist die Wasserstoffionenkonzentration des Pansensaftes mittels der Gaskettenmethode gemessen worden. Nach SCHEUNERT, ELLENBERGER und SCHEUNERT, TAPPEINER, BIEDERMANN, LIEBETANZ reagiert die Pansenflüssigkeit schwach alkalisch, neutral oder schwach sauer. Bei den Wiederkäuern reguliert das ständig sezernierte Parotidensekret durch seinen hohen Alkaligehalt die Reaktion der Vormägen. Die Untersuchungen von HERRMANN über die Wasserstoffionenkonzentration des Speichels einiger Haustiere haben ergeben, daß der Alkaligehalt des Speichels vom Rind am größten (im Mittel $p_H = 8{,}10$) ist. Von STÅLFORS ist die Reaktion des Pansensaftes mit Lackmuspapier geprüft worden, und die Untersuchungen haben gezeigt, daß die Reaktion innerhalb von zwei Monaten ziemlich gleichartig war, und zwar schwach sauer oder ab und zu neutral. Mittels der Gaskettenmethode ist von GABRIEL die Wasserstoffionenkonzentration der Pansen-, von STREMNITZER die der Psalter- und von KAPLAN die der Labmagenflüssigkeit untersucht worden. Der Panseninhalt zeigte eine größere Alkalität als der Psalterinhalt, der nach STREMNITZER einen Mittelwert von $p_H = 7{,}18$ hatte. Die Reaktion des Labmagens ist immer eine absolut saure und beträgt nach KAPLAN im Mittel $p_H = 3{,}31$. Diese Befunde ergeben also, daß die Reaktion

des Pansens alkalisch, die des Psalters neutral und die des Labmagens sauer ist, und sie gestatten daher die Annahme, daß die Ophryoscoleciden beim Übergang vom Pansen in den Labmagen infolge der zunehmenden sauren Reaktion sterben.

Die Berücksichtigung der Gase, wie sie sich im Pansen vorfinden, erscheint für die Züchtung nicht unwesentlich. Die Infusorien leben im Pansen unter mehr oder weniger anaeroben Bedingungen. Wir hielten es für durchaus möglich, daß bisher bei den Züchtungsversuchen deshalb unbefriedigende Resultate erzielt wurden, weil sie unter aeroben Bedingungen, also bei ungehindertem Zutritt vor allem des Sauerstoffs der Luft angestellt wurden. Analysen der Pansengase sind von Tappeiner, Lungwitz u. a. ausgeführt worden und haben ergeben, daß die Gase vorwiegend aus Kohlensäure und Methan im annähernden Verhältnis 2 : 1 (etwa 65% Kohlensäure und 30% Methan) bestehen. Der Gehalt des Pansensaftes an Sauerstoff beträgt nach Tappeiner 0,19%, Wasserstoff ist nur in geringer Menge (0,2%) vorhanden oder fehlt ganz, Stickstoff findet sich ebenfalls nur wenig. Für die anaeroben Verhältnisse im Pansen spricht auch das Vorkommen typischer anaerober Bakterien, wie *Bac. putrificus*, Nekrosebazillus u. a. Die für die Pansengärung charakteristische Methangärung ist eine typische anaerobe. Die Gase, die nach Tappeiner aus der vergorenen Cellulose stammen, lassen sich experimentell in Gärröhrchen nach Angaben von Wester darstellen, wovon ich mich überzeugen konnte.

Die Züchtungsversuche wurden ausgeführt unter Berücksichtigung der Reaktion des Pansensaftes und der Gase im Pansen des Rindes. Diese beiden Momente schienen besonders beachtenswert; denn einerseits tötet saure Reaktion die Protozoen schnell ab, wie in späteren Versuchen gezeigt werden wird, andererseits können aerobe Bedingungen in den Kulturgefäßen die Entwicklung der Ophryoscoleciden hemmen. Nägler gelang z. B. die Züchtung einiger parasitärer Amöben unter aeroben Bedingungen nicht. Es liegt daher die Annahme nahe, daß das Mißlingen von Kulturversuchen anaerober parasitischer Protozoen auf die Anwesenheit von Luft in den Kulturgefäßen zurückzuführen ist. Da z. B. besondere Bakterien nur bei völliger Abwesenheit des Luftsauerstoffs in den Kulturgefäßen und auch in den Nährmedien, andere Bakterien wieder nur bei bestimmter Sauerstoffspannung, wieder andere Bakterien auch als sogenannte fakultative Anaerobier leben können, so ist die Vermutung wohl berechtigt, daß auch gewisse Protozoen sich in vitro nur bei bestimmten Gasverhältnissen zu entwickeln vermögen.

## Eigene Untersuchungen.

Es ist zunächst in Vorversuchen die Wasserstoffionenkonzentration des Pansensaftes vom Rind aus folgender Erwägung bestimmt worden. Die Kohlensäure im Pansen vermischt sich mit dem Pansensaft und säuert ihn an. Bei Bestimmung der Reaktion der Pansenflüssigkeit kann durch Filtration usw. die im Pansensaft gebundene Kohlensäure entweichen und dadurch die Reaktion alkalischer werden. Dieser Umstand ist bisher beim Nachweis sowohl mit Lackmuspapier als auch mit der Gaskettenmethode nicht besonders beachtet worden. Es war zu erwarten, daß Pansensaft, der längere Zeit mit Luft in Berührung gewesen ist, alkalischer reagiert als Pansensaft, aus dem die Kohlensäure nicht entweichen konnte. Diese Annahme hat durch die nachfolgenden Versuche eine vollkommene Bestätigung gefunden.

Panseninhalt wurde nach einem Schnitt in den Pansen in einer Thermosflasche aufgefangen, vor Beginn der Versuche filtriert und im offenen Gefäß stehen gelassen. Für eine zweite Versuchsreihe wurde Pansensaft mit einer luftdicht schließenden Rekordspritze, der nach Zwischenschaltung eines Gummischlauches eine 20 cm lange und 4 mm breite Kanüle aufgesetzt war, aus dem uneröffneten Pansen aufgesaugt, hierauf der Gummischlauch mit Quetschschraube abgedichtet und der Inhalt nach Eintreffen im Institut sofort zur $p_H$-Messung in die Elektrode gefüllt. Der Panseninhalt wurde im Rostocker Schlachthof von Rindern entnommen, die am Tage vorher mit Heu gefüttert worden waren. Die Zeit von der Entnahme des Pansensaftes bis zur Ausführung der Messung betrug etwa $^1/_2$ Stunde, so daß eine wesentliche Nachgärung möglichst verhindert wurde. Die pH-Messungen mit der Gaskettenmethode wurden im Physiologischen Institut der Universität ausgeführt. Der zur Herstellung der Gaskette notwendige Wasserstoff wurde auf elektrolytischem Wege erzeugt und durch Vorlage einer Pyrogallollösung von Sauerstoffspuren befreit. Als Vergleichselektrode diente eine Normalkalomelelektrode und als Verbindungsflüssigkeit eine gesättigte KCl-Lösung. Jede Messung wurde solange fortgesetzt, bis konstante Werte für die elektromotorischen Kräfte (Millivoltzahlen) ermittelt waren, aus denen dann mit Hilfe der Tabellen von Ylppö die Wasserstoffexponentwerte unter Berücksichtigung der Temperatur zu ersehen waren. Es wurden zunächst zehn Proben Pansenflüssigkeit, die mit Luft in Berührung gewesen waren, gemessen. Gleichzeitig wurden in Kontrollversuchen die erhaltenen Werte mit denen bei der Michaelisschen Indikatorenmethode gefundenen verglichen. Da bei der Indikatorenmethode eine Verdünnung der zu untersuchenden Flüssigkeit (2 ccm) mit physiologischer Kochsalzlösung (5 ccm) erforderlich ist, mußte auch der Pansensaft vor Einfüllen in die Elektrode entsprechend verdünnt werden. Es wurde unverdünnter und verdünnter Pansensaft mit der Gaskette gemessen und diese Werte mit dem bei der Indikatorenmethode gefundenen verglichen. Es ergab sich hierbei, daß die mit der Gaskette erhaltenen Wasserstoffexponenten nur geringe Abweichungen von denen mit Farbindikatoren bestimmten zeigten. Die Methode der $p_H$-Bestimmung von filtriertem Pansensaft mit Farbindikatoren erwies sich demnach als brauchbar, so daß bei den weiteren Versuchen von der Messung mittels der Gaskette abgesehen werden konnte.

Unverdünnte und mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnte Pansensäfte ergaben übereinstimmend mit der Gaskette einen Mittelwert von $p_H = 7{,}74$, die mit Farbindikatoren gemessenen einen Mittelwert von $p_H = 7{,}6$. Die Reaktion war also stets alkalisch. Bei weiteren Versuchen zeigten Pansensäfte, die bei der Entnahme und während des Filtrierens mit Luft in Berührung gewesen waren, einen Mittelwert

von $p_H = 7{,}46$, die gleichen Pansensäfte, die in der beschriebenen Weise mit der Spritze entnommen wurden, einen Mittelwert von $p_H = 6{,}78$. Der Unterschied beträgt 0,68. Der mit der Spritze entnommene Pansensaft zeigte also eine saure, nach Berührung mit Luft aber eine alkalische Reaktion. Es wurde nun der Versuch gemacht, den durch Entweichen der Kohlensäure alkalisch gewordenen Pansensaft durch Vermengen mit einem Gemisch aus etwa $^1/_3$ Luft und $^2/_3$ Kohlensäure (Prozentgehalt Kohlensäure im Pansen) wieder sauer zu machen. Dieser Pansensaft zeigte überraschend annähernd dieselbe Wasserstoffionenkonzentration wie der mit der Spritze aufgesaugte, z. B.

Pansensaft mit Spritze aufgesaugt . . . . . $p_H = 6{,}98$
„ unverdünnt, mit Luft in Berührung . . . . . $p_H = 7{,}82$
„ verdünnt, mit Luft in Berührung . . . . . $p_H = 7{,}84$
„ nach Berührung mit Luft vermengt mit einem Gasgemisch aus $^1/_3$ Luft und $^2/_3$ Kohlensäure . . . . . $p_H = 6{,}91$

Durch Vermischen der im Pansen meist vorhandenen Menge Kohlensäure mit dem an der Luft alkalisch gewordenen Pansensaft konnte die ursprünglich schwach saure Reaktion wieder erzeugt werden.

Diese Versuche lassen somit die Deutung zu, daß die Reaktion des Pansensaftes im Pansen eine schwach saure oder neutrale ist und daß sie erst nach Berührung mit Luft (Entweichen der Kohlensäure) alkalisch wird.

Es ergab sich nun die Frage, welche Reaktion den Ophryoscoleciden einerseits die besten Lebensbedingungen bietet und welche sie andererseits abtötet. Zur Klärung hierüber wurden die folgenden Versuche angestellt.

Im Pansensaft von verschiedener Reaktion, und zwar saurer ($p_H = 5{,}0$) bis alkalischer ($p_H = 7{,}6$), wurden lebhaft bewegliche Ophryoscoleciden gebracht und ermittelt, wie lange die Protozoen darin lebten. Im einzelnen wurde so verfahren, daß Pansensaft zunächst grob und dann durch Seitzsche Klärungsfilter filtriert wurde. In sterile Erlenmeyerkölbchen wurden je 50 ccm der Pansenflüssigkeit filtriert und die Reaktion mit Natronlauge oder Salzsäure auf folgende $p_H$-Werte eingestellt: 5,0—5,4—5,6—6,0—6,4—6,8—7,0—7,2—7,6. Je eine Versuchsreihe wurde im Brutschrank bei 37° C und bei Zimmertemperatur gehalten. Im Schlachthof wurde aus mehreren körperwarmen Pansen ophryoscolecidenhaltiges Material entnommen und in vorher angewärmten Thermosflaschen sofort nach dem Institut gebracht und mikroskopiert. Mit derjenigen Probe, die die meisten Ophryoscoleciden enthielt, wurden die Kölbchen beimpft, indem gleiche Mengen (1 ccm) mit angewärmten Pipetten eingefüllt wurden. Aus denjenigen Proben, deren Reaktion für die Ciliaten günstig zu sein schien (6,8—7,6) wurde nur in größeren Zeitabständen mittels Pipetten Material entnommen.

Da nur noch schwach bewegliche Ophryoscoleciden beim Verbringen aus dem warmen Pansensaft auf den kalten Objektträgertisch des Mikroskopes sehr leicht ihre Beweglichkeit einbüßen und somit den Tod vortäuschen können, wurde zum Mikroskopieren ein heizbarer Objekttisch benutzt, und zwar der automatisch sich regulierende elektrische Heiztisch nach WALTON, dessen Bau und Handhabung W. J. SCHMIDT an Hand von Abbildungen beschrieben hat. Als Wärmespender dient elektrischer Strom, dessen Zufluß entsprechend der Wärmeabgabe des

Tabelle 1.

| Zeit Std. | $p_H$ 5,0 | $p_H$ 5,4 | $p_H$ 5,6 | $p_H$ 6,0 | $p_H$ 6,4 | $p_H$ 6,8 | $p_H$ 7,0 | $p_H$ 7,2 | $p_H$ 7,6 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1/4 | −(−) | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) |
| 1/2 | | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) |
| 3/4 | | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) |
| 1 | | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) |
| 1 1/2 | | | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) |
| 2 | | | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) |
| 4 | | | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) |
| 6 | | | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) |
| 8 | | | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) |
| 10 | | | +(−) | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) |
| 20 | | | | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) |
| 22 | | | | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) |
| 24 | | | | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) |
| 26 | | | | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) |
| 28 | | | | +(−) | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) | +(−) |
| 30 | | | | +(−) | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) | +(−) |
| 32 | | | | +(−) | +(+) | +(+) | +(+) | +(+) | +(−) |
| 34 | | | | +(−) | +(−) | +(+) | +(−) | +(−) | |
| 44 | | | | | +(−) | +(+) | +(−) | +(−) | |
| 46 | | | | | +(−) | +(−) | +(−) | +(−) | |
| 48 | | | | | | +(−) | +(−) | | |
| 50 | | | | | | +(−) | | | |
| 52 | | | | | | +(−) | | | |

Die in Klammern verzeichneten Resultate gelten für die Aufbewahrung der Kölbchen bei Zimmertemperatur.

Für die $p_H$-Messungen unter 7,2 wurde 0,1%ige wässerige Lösung von p-Nitrophenol, für die Messungen über 7,2 0,3%ige wässerige Lösung von m-Nitrophenol als Farbindikator benutzt.

Heiztisches automatisch geregelt wird. Da das Quecksilbergefäß des Ablesethermometers sich unmittelbar über dem Präparat ebenfalls im Innern des Heiztisches befindet, ist Gewähr geboten, daß die abgelesene Temperatur der am Präparat herrschenden entspricht. Das Präparat befindet sich im Innern des Heiztisches, und die darüber streichende abkühlende Luft wird durch einen Aufsatz abgehalten. Bei einigermaßen

gleichbleibender Zimmertemperatur, Vermeiden von Luftzug und möglichster Entfernung des wärmestrahlenden Widerstandes vom Arbeitsplatz schwankt die Temperatur höchstens um 0,5° C. Der Apparat genügt weitgehenden Ansprüchen und ist bequem zu handhaben.

Die Untersuchungen zur Beantwortung der Frage, welche Reaktion des Pansensaftes den Ophryoscoleciden die besten Lebensbedingungen bietet, haben zu dem Resultat geführt, daß die Ophryoscoleciden in Pansenflüssigkeit mit einem $p_H$-Wert von 5,0 sofort sterben und daß ihre Lebensdauer zunimmt mit steigender alkalischer Reaktion bis 6,8 (1 Stunde bei $p_H = 5{,}4$; 10 Stunden bei $p_H = 5{,}6$; 34 Stunden bei $p_H = 6{,}0$). Die Protozoen lebten am längsten (52 Stunden) bei einer Reaktion von $p_H = 6{,}8$. Mit steigender Alkalität über 6,8 ist die Lebensdauer wieder etwas kürzer (48 Stunden bei $p_H = 7{,}0$; 46 Stunden bei $p_H = 7{,}2$; 32 Stunden bei $p_H = 7{,}6$).

Wiederholte Versuche ergaben übereinstimmend ein sofortiges Absterben der Ciliaten in Pansenflüssigkeit mit $p_H = 5{,}0$, dann Zunahme und wiederum längste Lebensdauer bei $p_H$-Werten von 6,4—7,2. Die absoluten Zahlen waren jedoch etwas kleiner als die in der Tabelle angeführten.

Es konnte somit gezeigt werden, daß die Ophryoscoleciden die längste Zeit bei einer schwach sauren oder neutralen Reaktion des Pansensaftes ($p_H = 6{,}6 — 7{,}0$) lebten. Je saurer die Pansenflüssigkeit reagiert, desto kürzer ist die Lebensdauer der Ciliaten darin. Saure Reaktion von $p_H = 5{,}0$ tötet die Ophryoscoleciden sofort. Dieser Befund erklärt auch die Tatsache, daß im Labmagen mit saurer Reaktion (nach Kaplan im Mittel $p_H = 3{,}31$) lebende Ophryoscoleciden sich niemals finden. Es konnte ferner festgestellt werden, daß die Ophryoscoleciden im Thermostaten bei 37° C durchschnittlich 10 Stunden länger lebten als bei Zimmertemperatur.

Die Proben wurden solange mikroskopiert, bis eine zweimalige Untersuchung innerhalb einer Stunde bewegliche Ciliaten nicht mehr ergab und ein Schlagen der Cilien auch im Innern des Körpers nicht mehr zu erkennen war. Auf die Formveränderungen beim Absterben und einige Zeit danach wird später kurz hingewiesen werden. Eine Beobachtung sei jedoch hier mitgeteilt. Es fanden sich in sauren Medien, vorwiegend bei einem $p_H$-Wert von 6,0 auffallend viele Teilungsformen (besonders von Diplodinium).

Die Reaktion des Pansensaftes in den Kölbchen hatte sich bei Abschluß der Versuche, geprüft mit Farbindikatoren, fast nicht verschoben.

Entsprechend den Gasen im Pansen, die etwa aus 65% Kohlensäure und 30% Methan bestehen, wurde für die Züchtung ein Gasgemisch aus Kohlensäure und Methan im annähernden Verhältnis hergestellt. Hierzu wurde ein 10 Liter fassender Gasometer benutzt. Kohlensäure wurde

im Kippschen Apparat aus Marmor und Salzsäure und Methan aus Aluminiumkarbid hergestellt[1]. Von der Beimengung der nur in geringen Mengen im Pansen noch vorkommenden Gase wie Schwefelwasserstoff und Stickstoff wurde abgesehen.

Es mußte berücksichtigt werden, daß beim Vermischen des Gases mit dem Pansensaft dieser saurer wurde. Versuche haben nun ergeben, daß durch Zuleiten obigen Gasgemisches während 15 Minuten die Reaktion, gemessen mit Farbindikatoren, sich um etwa $p_H = 0{,}9$ verschob. Um nach Zuleiten des Gases einen Pansensaft von $p_H = 6{,}9$ zu erhalten, mußte vorher die Reaktion auf etwa 7,8 eingestellt werden.

Das Gas wurde in jedem Falle 10—15 Minuten durch das Kulturgefäß hindurchgeleitet, um die Luft und damit den Sauerstoff zu verdrängen und dadurch die teilweise anaeroben Verhältnisse im Pansen nachzuahmen. Als Nahrung wurde fein zerriebenes und mit dem Mörser zerstampftes Heu verwendet. Saugflaschen von 250 ccm Inhalt dienten als Kulturgefäße. Der luftdicht aufsitzende Gummistopfen ist doppelt durchbohrt und von je zwei 6 mm breiten Glasröhren, von denen die gebogene bis dicht auf den Boden des Gefäßes reicht und zum Einleiten des Gases, die gerade zum Ansatz des Filtrierapparates und zum Beimpfen diente. Aus der geraden Röhre wurden auch mit Kapillaren die Proben zum Mikroskopieren entnommen. Der seitliche Glasansatz wurde beim Filtrieren an die Wasserstrahlpumpe angeschlossen.

Die Verwendung frischen Pansensaftes mit einer für die Ophryoscoleciden optimalen Reaktion, teilweise anaerobe Verhältnisse im Kulturgefäß und Gase, wie sie sich annähernd im Pansen finden, sowie fein zerriebenes Heu als Nahrung sollten die Lebensbedingungen der Ophryoscoleciden nachahmen.

Vor Ausführung der eigentlichen Versuche habe ich zum Teil die in der Literatur angegebenen Züchtungsverfahren geprüft, um mir ein Urteil über deren Leistungsfähigkeit zu bilden, und ich habe hierbei gefunden, daß diesen nur ein orientierender Wert zukommt. Ich habe in Leitungswasser und in filtriertem Pansensaft mit fein zerschnittenem Heu innerhalb von 14 Tagen bei Aufenthalt im Thermostaten und bei Zimmertemperatur Ophryoscoleciden sich nicht entwickeln sehen. Eine Antwort auf die Frage, warum diese Versuche negativ endeten, scheinen die Resultate der täglich zweimal vorgenommenen $p_H$-Bestimmungen der Heuinfuse zum Teil zu geben. Die Reaktion der Infuse war zu Beginn des Versuches $p_H = 7{,}5$, nach 24 Stunden 6,5, nach 48 Stunden 5,6, nach 72 Stunden 5,3. Vergleicht man diese $p_H$-Werte mit der in der Tabelle 1 bei den gleichen Werten ermittelten Lebensdauer der Ophryos-

[1] Bei der Herstellung der Gase unterstützte mich Herr Dr. Busch, Volontärassistent am Chemischen Institut der Universität, wofür ich ihm auch an dieser Stelle meinen herzlichsten Dank ausspreche.

coleciden, so liegt der Schluß nahe, daß die Ophryoscoleciden bei $p_H = 5{,}3$, sofern sie sich aus den wahrscheinlich am Heu haftenden Dauerformen entwickelt hätten, rasch wieder abgestorben wären. Das negative Ergebnis ist jedoch nicht durch die eintretende Säuerung bedingt gewesen. In Infusen aus Heu mit Panseninhalt und Leitungswasser haben Ophryoscoleciden, wenn die Säuerung durch Alkalien (Natrium carbonicum, Magnesia usta) verzögert oder ganz aufgehoben wurde, auch nach längerer Zeit (14 Tage) sich nicht entwickelt. In Leitungswasser und in filtriertem Pansensaft mit fein zerschnittenem Heu lebten die Ophryoscoleciden längere Zeit, wenn die Säuerung durch Alkalien verhindert wurde. Ich konnte beobachten, daß in solchem Pansensaft vereinzelte Ophryoscoleciden oft noch längere Zeit sehr lebhaft beweglich blieben. Die Frage, ob in Pansenflüssigkeit bei verzögerter Säuerung eine Vermehrung der Ophryoscoleciden stattgefunden hat, ist schwer zu entscheiden, und in Zweifelsfällen wird mit Vorsicht die Frage zu erörtern sein, ob einzelne lebhaft bewegliche Ophryoscoleciden als durch Teilung entstandene junge Formen anzusprechen sind oder ob sie durch irgendwelche besondere Umstände ihre unverminderte Beweglichkeit beibehielten.

Im Pansensaft, der von geschlachteten Rindern sofort entnommen und in Thermosflaschen bei warmer Außentemperatur (Sommer) nach dem Institut gebracht wurde, lebten die Ophryoscoleciden bei Zimmertemperatur 31 Stunden, im Thermostaten bei 37° C 40 Stunden. Hierbei blieben die Entodinien (*E. minimum*) die längste Zeit beweglich.

Die von Trier beobachtete verhältnismäßig lange Lebensdauer von *Diplodinium bursa* muß wohl auf besondere Umstände zurückgeführt werden. Eine Lebensdauer von 6—7 Tagen ist bei *Diplodinium bursa* bisher noch nicht beobachtet worden. Den Tod der Tiere habe ich wie alle früheren Untersucher mit der eintretenden Säuerung des Pansensaftes erklärt und ich wurde in dieser Annahme durch experimentelle Untersuchungen bestärkt. Nur unter besonderen Bedingungen in den Kulturgefäßen vermochten *Diplodinium bursa* und *Entodinium minimum* längere Zeit zu leben (s. spätere Versuche).

Die Hauptversuche dienten zur Klärung der folgenden Fragen:

1. Wie verschiebt sich die Reaktion von filtriertem Pansensaft mit einer Wasserstoffionenkonzentration von $p_H = 6{,}9$ in Kulturgefäßen, die nicht sterilisiertes Heu, ophryoscolecidenhaltige nicht filtrierte Pansenflüssigkeit und ein Gasgemisch aus 65% Kohlensäure und 35% Methan enthalten und wodurch läßt sich eine starke Säuerung des Pansensaftes verhindern?

2. Wie lange vermögen Ophryoscoleciden in filtriertem Pansensaft mit einer H-Ionenkonzentration von $p_H = 6{,}9$ in Kulturgefäßen zu leben, die nicht sterilisiertes Heu und ein Gasgemisch aus 65% Kohlen-

säure und 35% Methan enthalten (teilweise anaerobe Bedingungen), und findet darin eine Vermehrung der Ophryoscoleciden statt?

3. Leben die Ophryoscoleciden längere Zeit, wenn das Gasgemisch öfter durch das Kulturgefäß geleitet wird?

4. Ist die Lebensdauer der Ophryoscoleciden bei verschiedenem Mischungsverhältnis der beiden Gase eine verschiedene?

5. Entwickeln sich aus den wahrscheinlich am Heu anhaftenden Dauerformen Ophryoscoleciden?

6. Ist eine Fortzüchtung der Ophryoscoleciden möglich?

7. Ist in den Nährlösungen unter ungünstigen Bedingungen für die Ophryoscoleciden eine Encystierung zu beobachten?

Zu den Versuchen wurden die beschriebenen Saugflaschen benutzt, die vor Gebrauch sterilisiert wurden. Es wurden 2 g fein zerkleinertes Heu in die Kulturgefäße geschüttet. Durch Watte filtrierter Pansensaft wurde durch Seitzsche Klärschichten in die Gefäße mit Wasserstrahlpumpe gesaugt, bis etwa 120 ccm Flüssigkeit im Gefäß waren. Der Filtrierapparat wurde hierauf von der geraden Glasröhre abgenommen und der Gummischlauch mit Quetschschraube abgedichtet. Die Beimpfung mit Ophryoscoleciden enthaltendem Pansensaft geschieht mit feinen bis auf den Boden des Gefäßes reichenden Kapillaren. Die Durchleitung des Gases geschieht 10—15 Minuten lang. Während des Einströmens des Gases durch das gebogene Glasrohr wird der Quetschhahn am seitlichen Glasansatz (zur Wasserstrahlpumpe führend) etwas geöffnet, damit die im Gefäß befindliche Luft herausgedrängt werden kann. Die Stärke des zuströmenden Gases wird am Gasometer reguliert unter Beachtung der Gasblasen, die in einer zwischen Gasometer und Gefäß geschalteten Wasserflasche aufsteigen. Die Gefäße werden im Thermostaten bei 37° C bebrütet.

1. Die Lebensdauer der Ciliaten konnte in dieser Versuchsreihe unbeachtet bleiben, da die Aufgabe zunächst darin bestand, die Verschiebungen der Reaktion festzustellen. Es sollte ferner ermittelt werden, welche Mengen Alkali erforderlich sind, um die Pansenflüssigkeit bei starker Säuerung auf eine für die Ophryoscoleciden günstige Reaktion zu bringen.

Der durch Klärschichten filtrierte Pansensaft wurde auf $p_H = 7{,}8$ eingestellt und mit Ophryoscoleciden enthaltender Pansenflüssigkeit beimpft. Nach 10—15 Minuten langem Durchleiten des Gases verschob sich die Reaktion, wie wiederholte Kontrollversuche ergaben, auf 6,7 bis 7,0. Die einsetzende Änderung der Reaktion ist bedingt durch Gärungsvorgänge. Es entwickeln sich im Verlaufe des Versuches Gase, die aus der vergorenen Cellulose stammen.

Die Entnahme des Pansensaftes erfolgte durch das gerade Glasrohr mit fein ausgezogenen 5 ccm-Vollpipetten, die auf dem Gummischlauch

des Glasrohres fest aufsaßen, so daß ein Entweichen des im Glas befindlichen Gases möglichst vermieden wurde. Entnommen wurden jeweils 5 ccm[1].

Die Reaktion änderte sich in 14 Tagen von $p_H = 6{,}9$ auf 5,7. Dabei ist zu bemerken, daß die Verschiebung innerhalb 24 Stunden 0,9 und in 13 Tagen nur 0,3 betrug. Die Messungen erfolgten mit den Michaelisschen Indikatoren (0,1%ige wässerige Lösung von p-Nitrophenol). Die im Verlauf von 14 Tagen getrübte Flüssigkeit wurde entsprechend der Versuchsanordnung mit 4 bzw. 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung verdünnt und dadurch aufgehellt, so daß eine Unterscheidung der Farbtöne möglich war.

| | | | |
|---|---|---|---|
| Beginn | $p_H$ 6,9 | nach 36 Stunden | $p_H$ 5,9 |
| nach 4 Stunden | 6,8 | „ 48 „ | 5,8 |
| „ 8 „ | 6,8 | „ 3 Tagen | 5,8 |
| „ 12 „ | 6,6 | „ 4 „ | 5,7 |
| „ 20 „ | 6,1 | „ 5 „ | 5,7 |
| „ 24 „ | 6,0 | „ 7 „ | 5,7 |
| „ 30 „ | 6,0 | „ 10 „ | 5,7 |
| | | „ 14 „ | 5,7 |

Zur Alkalisierung der Pansenflüssigkeit wurde Magnesiumoxyd verwendet, dessen besonderen Einfluß auf die Pansengärung Tappeiner geprüft hat. Der Zusatz von 1% Magnesiumoxyd zu frischem neutralen Pansensaft verhindere die Gärung 3 Tage, von $1^1/_2$% 3 Wochen. Bei den vorliegenden Versuchen wurde Magnesiumoxyd nicht zu neutralem Pansensaft zugesetzt, da hierdurch die Reaktion sehr alkalisch geworden wäre, sondern erst nach erfolgter Säuerung. Die Alkalisierung mußte zu einem Zeitpunkt erfolgen, in dem die Pansenflüssigkeit noch nicht zu sauer geworden war und mit einer Alkalimenge, die den Pansensaft nicht zu sehr alkalisierte. Das Magnesiumoxyd wurde nach 24 Stunden bei einer Reaktion des Pansensaftes von etwa $p_H = 6{,}0$ zugesetzt. Versuche haben ergeben, daß durch 0,1% Magneisumoxyd Pansenflüssigkeit etwa um 0,9—1,0 alkalischer wurde. Pansensaft von $p_H = 6{,}0$ wurde also durch Zusatz von 0,1% Magnesiumoxyd wieder auf die für die Ophryoscoleciden günstige Reaktion (6,9—7,1) gebracht. Die Säuerung erfolgte nunmehr etwas langsamer, so daß erst nach 48 Stunden die H-Ionenkonzentration wieder 6,0 betrug, worauf erneut mit 0,1% Magnesiumoxyd neutralisiert wurde.

2. In der folgenden Versuchsreihe wurde geprüft, wielange die Ophryoscoleciden im filtrierten Pansensaft mit nicht sterilisiertem Heu

[1] Neuerdings hat Bresslau einen einfachen, insbesondere für kleine Flüssigkeitsmengen geeigneten Apparat zur Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration mit den Michaelisschen Indikatoren beschrieben (Hydrionometer), dessen besonderer Vorteil ist, daß zur Ausführung der $p_H$-Messung nur ganz geringe Mengen Flüssigkeit erforderlich sind, bei gut gepufferten Lösungen z. B. nur 0,1 bis 0,15 ccm.

als Nahrung und bei Gegenwart von einem aus Kohlensäure und Methan bestehenden Gasgemisch (teilweise anaerobe Bedingungen) zu leben vermögen und ob darin eine Vermehrung stattfindet.

Bei den Versuchen mit lebenden Ophryoscoleciden ist es von Wichtigkeit, die Pansenflüssigkeit sofort nach der Schlachtung der Rinder zu gewinnen, da bei späterer Entnahme durch Nachgärung sowie durch Temperaturwechsel die Protozoen geschwächt werden.

Die Kulturgefäße wurden mit nicht sterilisiertem Heu, filtriertem Pansensaft ($p_H = 7{,}9$) und Gas beschickt und mit $^1/_2$ ccm Pansenflüssigkeit, die reichlich Ophryoscoleciden enthielt, beimpft. Die Probeentnahme geschah mit feinen bis auf den Boden des Gefäßes reichenden Kapillaren. Es wurden jeweils mehrere Deckglaspräparate auf dem heizbaren Objekttisch mikroskopiert. Magnesiumoxyd wurde nach 24,60 und 80 Stunden der Kulturflüssigkeit zugesetzt. Die Reaktion des Pansensaftes hatte sich bei Abschluß der Versuche nur wenig verschoben (6,6—6,7—6,8). In den meisten der in dieser Versuchsreihe benutzten Pansensäften waren Ciliaten der Gattung Ophryoscolex nicht auffindbar, so daß sich die Beobachtungen in der Hauptsache auf die Gattungen *Entodinium* und *Diplodinium* bezogen. Ein zur Gattung Ophryoscolex gehöriges Infusor (*O. caudatus*) stark wesentlich früher als Diplodinien und Entodinien. Am widerstandsfähigsten war *Entodinium minimum*, das in allen Versuchen die längste Zeit lebte.

Die Versuche ergaben für *Diplodinium* (*D. bursa* Stein) durchschnittlich eine Lebensdauer von 80 Stunden und für *Entodinium* (*E. minimum*) von 96 Stunden. Nach dieser Zeit waren sie unbeweglich geworden; das Peristom war eingezogen, und ein Schlagen der Cilien auch im Innern des Körpers nicht mehr erkennbar. Die Formveränderungen beim Absterben der Protozoen haben sich eindrucksvoll beobachten lassen. Die Ophryoscoleciden bewegen sich langsamer und schließlich nur noch träge am Ort. Die Cilien schlagen ruhiger und nur noch zeitweise. Es ließ sich deutlich beobachten, wie *Entodinium* das Wimperorgan in das Körperinnere vollständig einzog und die Mundöffnung sphinkterartig verschloß. Die Cilien schlugen im Innern des Körpers noch einige Zeit. In späteren Stadien nehmen die beiden Gattungen eine rundliche Form an, wobei aber Kern und Vakuolen im Innern noch deutlich erkennbar sind. Sehr oft sieht man runde Degenerationsformen mit einer schwach gelblich gefärbten durchsichtigen Außenzone und einer mit grünen Futterpartikelchen ausgefüllten Innenzone. Diese Degenerationsformen waren verschieden lange Zeit aufzufinden (bis zu 3 Wochen). Teilungsformen habe ich während der 5 Tage dauernden Untersuchung bei *Diplodinium* einige Male beobachten können. Ob aber eine Vermehrung der Infusorien stattgefunden hat, vermag ich nicht zu entscheiden und ich bin geneigt, als Erklärung für die lange

Lebensdauer der Ophryoscoleciden die besonderen Umstände in den Kulturgefäßen anzuführen.

Die Ophryoscoleciden bewegten sich in den ersten beiden Tagen gleichmäßig stark, am dritten Tage wurden die Bewegungen allmählich langsamer, und im Verlauf des vierten Tages waren nur noch Formen mit eingezogenem Peristom zu erkennen.

3. Beim Entnehmen von Pansenflüssigkeit aus den Kulturgefäßen entweichen Gase. Es wurde deshalb nach jeder Entnahme von Kulturflüssigkeit, deren erste am zweiten Tage nach Beginn des Versuches und dann in kürzeren Zeitabständen erfolgte, Gas nach vorheriger Zugabe von Magnesiumoxyd zugeleitet. Für diese Versuche wurden Ophryoscoleciden aus derselben Pansenflüssigkeit wie zum Versuch 2 benutzt, da Voraussetzung für den Vergleich der Ergebnisse beider Versuche die gleiche Lebenskraft der Ophryoscoleciden ist.

Durch wiederholte Zuleitung des Gases lebten *Diplodinium* und *Entodinium* längere Zeit als nur bei einmaliger Durchleitung zu Beginn des Versuches, und zwar *Diplodinium* 8 Stunden länger, also im ganzen 88 Stunden, und *Entodinium* 11 Stunden länger, also im ganzen 107 Stunden.

Man wird die so verhältnismäßig lange Lebensdauer der Ophryoscoleciden im Sinne einer Vermehrung zumindest während des ersten Tages deuten dürfen, vom zweiten und noch mehr vom dritten Tage ab ist aber eine Vermehrung infolge Schwächung der Ciliaten unwahrscheinlich. Die Kontrolle für eine Vermehrung ließe sich nur durch Fortzüchtung des Augsangsmaterials erbringen, indem in den ersten Tagen die Ophryoscoleciden in frische Nährlösungen weitergeimpft werden und beobachtet wird, ob eine weitere Teilung und Vermehrung stattfindet. Nur durch derartige Untersuchungen läßt sich ein Urteil gewinnen, ob und wie lange Zeit eine Fortzüchtung der Ophryoscoleciden möglich ist. Diese Versuche werden unter 6. beschrieben.

4. Analysen der Pansengase haben ergeben, daß im Pansen vorwiegend Kohlensäure und Methan im Verhältnis 2 : 1, etwa 65% Kohlensäure und 35% Methan, sind. Die Zusammensetzung kann entsprechend der Art und Menge der aufgenommenen Nahrung und der Zeit, in der die Gase nach der letzten Futteraufnahme analysiert werden, variieren. Lungwitz z. B. fand als extreme Variationen für Kohlensäure 45,4 und 81,7%, für Methan 16,2 und 33,8%.

Es sollte geprüft werden, ob die Ophryoscoleciden bei verschiedenem Mischungsverhältnis der beiden Gase verschieden lange Zeit leben. Die Verschiebungen betrugen für Methan 25, 30 und 35%, für Kohlensäure entsprechend 65, 70 und 75%. Das Einströmen des Gases ließ sich an einer außen am Mantel des 50 cm langen Gasometers angebrachten graduierten Glasröhre verfolgen; durch diese Kontrolle konnten leicht

die Mischungsverhältnisse hergestellt werden. Die Lebensdauer der Ophryoscoleciden wurde nur bei einmaliger Zuleitung des Gases geprüft. Die Resultate sind nachfolgend angegeben.

| Thermostat 37° C | Versuch 1 | | Versuch 2 | |
|---|---|---|---|---|
| | mit Gas | ohne Gas | mit Gas | ohne Gas |
| 25% $CH_4$ + 75% $CO_2$ | 79 Stunden | 60 Stunden | 60 Stunden | 58 Stunden |
| 30% $CH_4$ + 70% $CO_2$ | 90 „ | | 71 „ | |
| 35% $CH_4$ + 65% $CO_2$ | 91 „ | | 75 „ | |

Ophryoscoleciden lebten in einem Gasgemisch aus 35% Methan und 65% Kohlensäure die längste Zeit; ihre Lebensdauer nahm ab mit steigendem Gehalt an Kohlensäure. Die Versuche zeigten auch, daß die Ophryoscoleciden in Kulturgefäßen mit Gas erheblich längere Zeit lebten als in Gefäßen ohne Gas.

5. Die Frage, ob sich aus den am Heu anhaftenden Dauerformen Ophryoscoleciden in Nährmedien bilden, ist von früheren Autoren oft zu klären versucht worden. Es war zweifelhaft, ob es gelingen würde, eine Entwicklung von Ophryoscoleciden aus den Dauerformen unter den neuartigen Bedingungen zu erzielen. Aus den anfangs gemachten Mitteilungen über Züchtungsversuche aus totem Material geht hervor, daß die Versuche teils ein positives Ergebnis gehabt haben sollen (Certes, Coste), teils erfolglos blieben (Pouchet, Eberlein, Günther, Fiebiger). Liebetanz hat fein zerschnittenes infektiöses mit Speichel vom Mensch und mit Wasser vermengtes Heu wochenlang stehen lassen und darin cystenartige Gebilde gesehen, die er als Dauerformen der Ophryoscoleciden anspricht. Der Beweis, daß diese Cysten die eingekapselten parasitischen Infusorien des Wiederkäuermagens seien, müsse durch die Züchtung erbracht werden. Liebetanz stellte hierzu Infuse aus Speichel vom Mensch, Pferd und Ziege mit fein zerquetschtem Heu her, ferner aus Pansenflüssigkeit mit von Rindern gekautem Heu. Eine Entwicklung von Ophryoscoleciden aus den cystenartigen Gebilden erfolgte jedoch nicht, und Liebetanz sieht die Ursache, weshalb die parasitischen Protozoen sich aus den Kapseln nicht entwickelten, darin, daß es ihm nicht gelang, in den Kulturen die im Wiederkäuermagen herrschenden Bedingungen hervorzurufen.

Durch die nachstehende Anordnung wurden die Lebensbedingungen der Ophryoscoleciden im Pansen nachzuahmen versucht. In den Kulturgefäßen waren fein zerkleinertes und zerstampftes Heu, filtrierter Pansensaft von schwach saurer bis neutraler Reaktion, ein aus Kohlensäure und Methan bestehendes Gasgemisch, das auch in der Flüssigkeit gebunden war. Durch wiederholten Zusatz von Magnesiumoxyd und Zuleitung des Gases blieb die Reaktion annähernd gleichmäßig auf $p_H = 6{,}8 — 7{,}0$. Die Bebrütung erfolgte bei 37° C; die Untersuchungen erstreckten sich auf 14 Tage. In dieser Zeit fanden sich niemals Ophryoscoleciden; auch

Gebilde, die als Dauerformen hätten gedeutet werden können, waren nicht nachweisbar. Es ist somit nicht gelungen, Ophryoscoleciden aus den etwa am Heu anhaftenden Dauerformen unter den besonderen Bedingungen zu züchten.

6. Eberlein hat in Heuinfuse übergeimpfte Infusorien nicht fortzüchten können. Er prüfte auch, ob und wie die Infusorien außerhalb des Tierkörpers leben. Um Konjugation und Teilung der Infusorien beobachten zu können, legte er Reinkulturen von *Diplodinium* und *Entodinium* nach der von Ogata angegebenen Methode an. Ogata füllte in 0,3—0,5 mm breite und 10—20 cm lange Kapillaren 2—3 ccm einer besonderen Nährlösung und saugte dann infusorienhaltige Flüssigkeit nach. Nach 5—30 Minuten finden sich lebhaft bewegliche Infusorien 2, 3 oder mehrere Zentimeter von der aufgesogenen Flüssigkeit entfernt in der klaren Lösung. Die Stellen, an denen einzelne Infusorien sich finden, werden markiert, abgebrochen und zugeschmolzen. Eberlein benutzte zu Reinkulturen die Nährlösungen nach Ogata und nach Schewiakoff; letztere besteht aus Heudekokt und Fleisch. Er erreichte jedoch nur, daß die Infusorien 36—48 Stunden lebten; das war durchschnittlich 12 Stunden länger, als wenn er sie in Pansenflüssigkeit beließ. Teilung oder Kopulation erwähnt Eberlein nicht.

Anschließend an die Versuchsreihe 3 habe ich 2 Tage nach Beimpfung der Kulturgefäße noch lebhaft bewegliche Diplodinien und Entodinien mit Kapillaren entnommen und in frische Nährlösungen überimpft. *Entodinium* blieb darin einen Tag sehr lebhaft beweglich und lebte überhaupt noch 3 Tage, also 120 Stunden im ganzen. Wurden sie aus dem zweiten Gefäß nach 12 und 24 Stunden weiter verimpft, so starben sie etwa zu gleicher Zeit wie die im Gefäß zurückverbliebenen Ophryoscoleciden. Wiederholte Versuche, durch tägliches oder in noch kürzeren Zeitabständen erfolgtes Überimpfen eine länger als 5 Tage dauernde Fortzüchtung zu erreichen, waren erfolglos; die Ophryoscoleciden (*Entodinium minimum*) lebten nicht länger als 5 Tage. Nach dieser Zeit ist offenbar eine Schwächung eingetreten, so daß auch Temperaturschwankungen, frische Nährlösungen, Schütteln usw., wodurch z. B. Calkins degenerierte Paramäcien wieder „verjüngen" konnte, nicht lebensverlängernd wirkten.

Eine Teilung hat wahrscheinlich auch noch im zweiten Gefäß stattgefunden, in dem ich wiederholt sehr schöne Teilungsformen von *Entodinium* zu beobachten Gelegenheit hatte.

7. Günther fand bei Untersuchungen des Magendarminhaltes von Wiederkäuern auf Dauerformen von Ophryoscoleciden in einem Falle besondere Gebilde und er ließ es dahingestellt sein, ob es sich um in Schrumpfung begriffene Ophryoscolecidenleichen oder um eine echte Encystierung handelte. Im Rektalinhalt waren zahlreiche cystenartige

Gebilde von rotbrauner oder grauer Farbe mit doppelter Kontur nachweisbar. Die Untersuchung dieser Gebilde ergab Sporen von Rostpilzen. Günther ist es nicht gelungen, im Inhalt des Magendarmkanals von Wiederkäuern irgendwelche Gebilde nachzuweisen, die er als Dauerformen der Infusorien hätte ansprechen können. Auch Reichenow konnte im Stuhl von Gorilla und Schimpanse Cysten von den Wiederkäuerinfusorien verwandten Formen nicht nachweisen.

Liebetanz beschreibt als einziger eingehend die Formveränderungen beim Absterben der Ophryoscoleciden und die daraus entstehenden Cysten. Liebetanz fand Cysten nicht nur im Panseninhalt von Ziegen, sondern konnte sie auch reichlich aus maceriertem Heu darstellen. Die Cysten hatten nicht gleiche Größe und Aussehen. Er beschreibt neben kleinen kugeligen Cysten mit einem grünen, trockenen protoplasmatischen Innenkörper und einer glasartigen durchsichtigen, nicht gefärbten breiten Hülle auch größere Formen mit einer entsprechenden breiteren glasartigen Außenzone. Liebetanz glaubt, daß es sich tatsächlich um die Kapseln der parasitischen Infusorien des Wiederkäuermagens handelte. Die differentialdiagnostisch in Frage kommenden Kapseln von *Colpidium colpoda* sowie die von Günther beschriebenen Schimmelpilzsporen seien morphologisch und durch den Farbenton von den Cysten der Ophryoscoleciden zu unterscheiden. „Das Endglied der Untersuchungskette", daß die gefundenen Cysten die eingekapselten Infusorien seien, müsse durch die Züchtung erbracht werden. Auf das negative Ergebnis dieser Versuche ist unter 4. hingewiesen worden.

Braune konnte irgendwelche Dauerformen nicht nachweisen, trotzdem er abgestorbene Ciliaten tagelang gehalten hat. Braune bezweifelt die Echtheit der von Liebetanz beschriebenen Cysten, die den Eindruck von pflanzlichen Gebilden oder auch von Wurmeiern machen und er folgert aus den bisherigen Untersuchungen, daß die Dauerformen der Ciliaten mit Sicherheit noch nicht festgestellt worden sind.

Die von Prowazek beschriebenen Formveränderungen bei Encystierung von *Balantidium coli* seien beiläufig kurz eingefügt. Die Encystierung erfolgt in der Weise, daß ein Teil der Nahrung ausgestoßen wird, die Zellen sich abrunden, die Cilien später „verquellen", und um das runde Individuum zunächst eine lichte doppelt konturierte Membran ausgeschieden wird. In gleicher Weise beschreibt Doflein die Encystierung von Ciliaten und gibt hierzu für *Colpoda cucullus* Abbildungen. Die Cysten, die sich nach Brumpt lange Zeit im Wasser halten, der Austrocknung aber nicht widerstehen, sind besonders von Casagrandi und Barbagallo untersucht worden.

Günther hat im Magendarmkanal niemals Dauerformen ermitteln können und weist als Erklärung hierfür auf die Möglichkeit hin, daß die Encystierung im Magendarmkanal zu einer ganz bestimmten Zeit erfolgen müsse.

Ich habe bei den Vorversuchen (Heuinfuse), bei der Bestimmung der optimalen Wasserstoffionenkonzentration sowie bei den Versuchen 2—6 der Ermittlung von Dauerformen besondere Aufmerksamkeit geschenkt, jedoch als solche zu deutende Formen niemals finden können. Das Absterben sowie die Formveränderungen hierbei, wie sie oben beschrieben sind, waren in jedem Kulturgefäß wochenlang nachweisbar. Kurz bevor die Degenerationsformen in der Flüssigkeit nicht mehr wahrnehmbar sind, gelingt eine Unterscheidung in eine durchsichtige Außenzone und in eine vorher oft mit Cellulosepartikelchen angefüllte Innenzone nicht mehr. Es sind dann nur noch vollkommen durchsichtige einfach konturierte Gebilde zu erkennen.

In den Kulturgefäßen ist bei den vorliegenden Versuchen eine Encystierung nicht beobachtet worden, und es ist möglich, daß sich infolge ungünstiger Umstände in den Kulturgefäßen Cysten überhaupt nicht haben entwickeln können.

## Zusammenfassung.

Ophryoscoleciden sterben in Pansenflüssigkeit mit einer Wasserstoffionenkonzentration von 5,0 sofort ab. Ihre Lebensfähigkeit nimmt zu mit steigender alkalischer Reaktion bis $p_H = 6{,}8$ und nimmt dann langsam wieder ab über $p_H = 7{,}0$. Eine schwach saure bis neutrale Reaktion der Kulturmedien ist daher eine wesentliche Voraussetzung für die Züchtung der Ophryoscoleciden. Die Darstellung der teilweise anaeroben Bedingungen geschieht durch Verdrängung der Luft aus den Kulturgefäßen mit einem Gasgemisch von ähnlicher Zusammensetzung wie das im Pansen des Rindes, das vorwiegend aus 65% Kohlensäure und 35% Methan besteht. Die Reaktion von filtriertem Pansensaft mit einem $p_H$-Wert von 6,9 verschob sich in Kulturgefäßen, die nicht sterilisiertes Heu, ein aus 65 % Kohlensäure und 35% Methan bestehendes Gas sowie Ciliaten enthielten, innerhalb 24 Stunden um $p_H = 0{,}9$, in 14 Tagen insgesamt um $p_H = 1{,}2$ nach der sauren Seite. Durch Zusatz von 0,1% Magnesiumoxyd wird die Pansenflüssigkeit durchschnittlich um $p_H$ 0,9—1,0 alkalischer. *Diplodinium bursa* Stein lebte bei einmaliger Zuleitung des Gases 80, *Entodinium minimum* 96 Stunden in Kulturgefäßen. Bei teilweise anaeroben Bedingungen in den Kulturgefäßen leben die Ophryoscoleciden längere Zeit als bei aerober Bebrütung. Die wiederholte Zuleitung von Kohlensäure und Methan in die Kulturgefäße erhöht die Lebensdauer der Ophryoscoleciden. *Diplodinium* lebte hierbei 88, *Entodinium* 107 Stunden. Bei verschiedenem Mischungsverhältnis des aus Kohlensäure und Methan bestehenden Gases ist die Lebensdauer der Ophryoscoleciden eine verschiedene, und zwar nimmt sie ab mit steigendem Gehalt an Kohlensäure über 65%. Die Lebensdauer von noch lebhaft beweglichen Diplodinien und Entodinien wird

durch Überimpfen in frische Nährlösungen erhöht. Bei täglicher Überimpfung lebten Entodinien 5 Tage; eine längere Fortzüchtung ist nicht möglich gewesen. Eine Umwandlung von Ophryoscoleciden in Dauerformen einerseits sowie eine Entwicklung aus den mit großer Wahrscheinlichkeit am Heu haftenden Dauerformen andererseits konnte nicht beobachtet werden.

Ich schließe diese Arbeit mit tiefem Dankgefühl gegen Herrn Professor Dr. Schulze, Direktor des Zoologischen Institutes der Universität Rostock, und gegen Herrn Professor Dr. Winterstein, jetzigen Direktor des Physiologischen Universitäts-Institutes Breslau. — Ich danke Herrn Professor Dr. Schulze für die Überlassung des Themas, für die in reichem Maße erwiesenen Anregungen und für die Förderung der Arbeit, Herrn Professor Dr. Winterstein für die Erlaubnis zur Vornahme der $p_H$-Messungen mittels der Gaskettenmethode im hiesigen Physiologischen Institut der Universität. Die Arbeit wurde im Landestierseuchenamt Rostock angefertigt.

## Literatur.

**Aragao, H. de B.:** Noticia sobre o *Nyctotherus cordiformis* Stein. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz **4,** 125—128. 1912. — **Awerinzew, S.** und **Mutafowa, R.:** Material zur Kenntnis der Infusorien aus dem Magen der Wiederkäuer. Arch. f. Protistenk. **33,** 109—118. 1914. — **Barret** and **Yarbrough:** A methode for the cultivation of *Balantidium coli.* Americ. Journ. of Trop. Med. **1,** 161. 1921. — **Biedermann, W.:** Die Aufnahme, Verarbeitung und Assimilation der Nahrung. Die Magenverdauung der Wiederkäuer. In: Winterstein, H., Handbuch der vergleichenden Physiologie **2,** 1329—1344. 1911. — **Bowan:** The Pathogenesis of the *Balantidium coli.* Journ. of the Americ. Med. Assoc. **57,** 1814. 1911. — **Braun, M.** und **Seifert, O.:** Die tierischen Parasiten des Menschen. Teil 1. Leipzig: Kabitzsch 1925. — **Braune, R.:** Untersuchungen über die im Wiederkäuermagen vorkommenden Protozoen. Arch. f. Protistenk. **32,** 111—116. 1914. — **Bresslau, E.:** Ein einfacher, insbesondere für kleine Flüssigkeitsmengen geeigneter Apparat zur Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration (Hydrionometer) mit den Michaelisschen Indikatoren. Dtsch. med. Wochenschr. 164. 1924. — Ders.: Ein einfacher, für hydrobiologische, zoologische und botanische Zwecke geeigneter Apparat zur Messung der Wasserstoffionenkonzentration. Arch. f. Hydrobiol. **15,** 585 bis 605. 1924. — **Brumpt, E.:** Démonstration du rôle pathogène du *Balantidium coli.* Enkystement et conjugaison de cet infusoire. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **67,** 103. 1909. — **Buisson, J.:** Les Infusoires ciliés du tube digestif de l'homme et des mammifères. Paris: Legrand 1923. — **Bundle, A.:** Ciliate Infusorien im Cöcum des Pferdes. Zeitschr. f. wiss. Zool. **60,** 284—350. 1895. — **Calkins, G. N.:** Studies on the Life-History of Protozoa. I. The Life-Cycle of *Paramaecium caudatum.* Arch. f. Entwicklungsmech. d. Mikroorganismen **15,** 139—186. 1903. — **Casagrandi, O.** und **Barbagallo:** *Balantidium coli* s. *Paramaecium coli.* Loven: Malmsten 1857. Catania Tipografia di Monaco e Mollica, 1896. Zitiert nach Prowazek. — **Certes, A.:** Note sur les Microorganismes de la Panse des Ruminants. Journ. de Micrographie **13,** 277—279. 1889. — **Coste, M.:** Développement des Infusoires ciliés dans une macération de foin. Cpt. rend. hebdom. des séances de l'acad. des sciences **59,** 149—155. 1864. — **Dobell, C. Cl.:** Researches on the intestinal Protozoa of Frogs and Toads. Quart. Journ. of Microscop. Science **53,** 201 bis 277. 1909. — **Doflein, F.:** Lehrbuch der Protozoenkunde. Jena: Fischer 1909. — **Eberlein, R.:** Über die im Wiederkäuermagen vorkommenden ciliaten Infu-

sorien. Zeitschr. f. wiss. Zool. **59**, 233. 1895. — **Edwards, M.:** Remarques de M. Milne Edwards à l'occasion de la précédente Communication: Développement des Infusoires ciliés dans une macération de foin. Cpt. rend. hebdom. des séances de l'acad. des sciences **59**, 155—156. 1864. — **Ellenberger, W.:** Die physiologische Bedeutung des Blinddarmes des Pferdes. Arch. f. Tierheilk. **5**, 399—453. 1879. — Ders. und **Scheunert, A.:** Die Verdauung. In: Ellenberger-Scheunert, Lehrbuch der vergleichenden Physiologie der Haussäugetiere. 1910. S. 340—357 und 1925. S. 215—285. Berlin: Parey. — **Fiebiger, J.:** Die tierischen Parasiten der Haus- und Nutztiere sowie des Menschen. 1923. S. 124—133. Leipzig: Braumüller. — **Gabriel, F.:** Die H-Ionenkonzentration im Panseninhalt des Rindes. Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **202**, 488. 1924. — **Bel George, S.** and **Couret, M.:** *Balantidium coli* infection in man. Journ. of Infect. Dis. **7**, 609. 1910. — **Gildemeister, E.:** Nährböden und Züchtung. In: Kraus und Uhlenhuth, Handbuch der mikrobiologischen Technik **1**, 535. 1923. — **Glaessner, K.:** Über Balantidienenteritis. Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh., Abt. I, Orig. **47**, 351 bis 362. 1908. — **Gruby** et **Delafond:** Recherches sur les animalcules se développant dans l'estomac et dans les intestins. Rec. de méd. vét. practique **20**, 859—866. 1843. — **Günther, A.:** Untersuchungen über die im Magen unserer Hauswiederkäuer vorkommenden Wimperinfusorien. Zeitschr. f. wiss. Zool. **64**, 529. 1899. — Ders.: Weitere Beiträge zur Kenntnis des feineren Baues einiger Infusorien aus dem Wiederkäuermagen und dem Coecum des Pferdes. Ebenda **67**, 640—662. 1900. — **Hartmann, M.:** Praktikum der Protozoologie. In: Kisskalt-Hartmann, Praktikum der Bakteriologie und Protozoologie. Jena: Fischer. — **Herrmann, B.:** Die H-Ionenkonzentration im Speichel einiger Haustiere. Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **202**, 475. 1924. — **Hinkelmann, A. J.:** Pathogenicity, cultivation and reproduction of protozoan parasites. New York Med. Journ. 1919. S. 234—240. Zitiert nach Nöller. — **Joest, E.:** Spezielle pathologische Anatomie der Haussäugetiere **1**, 316. 1919. — **Kaplan, H.:** Die H-Ionenkonzentration im Labmagen des Rindes. Inaug.-Diss. 1924, Physiol. Inst. d. tierärztl. Hochschule Wien. — **Klimmer, M.:** Technik und Methodik der Bakteriologie und Serologie. Berlin: Julius Springer 1923. — **Krzywanek, F. W.:** Die Mechanik des Wiederkauens. Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1926. S. 721. — **Küster, E.:** Kultur der Mikroorganismen. Leipzig: Teubner 1921. — **Liebetanz, E.:** Die parasitischen Protozoen des Wiederkäuermagens. Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1905. S. 313—314. — Ders.: Die parasitischen Protozoen des Wiederkäuermagens. Arch. f. Protistenkunde **19**, 19 bis 78. 1910. — **Lungwitz, M.:** Die Gase des Rinderpansens nach dem Genuß verschiedener Futtermittel mit Berücksichtigung des akuten Aufblähens und dessen Behandlung durch gasabsorbierende Arzneimittel. Arch. f. wiss. Tierheilk. **18**, 80 bis 110. 1891. — **Manteufel:** Demonstration eines neuen Seitz-Filters für Laboratoriumszwecke. Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh., Abt. I, Orig. **93**, Beih., 259. 1924. — **Meißner:** Beitrag zur Ernährungsphysiologie der Protozoen. Zeitschr. f. wiss. Zool. **46**, 498. 1888. — **Michaelis, L.:** Die Wasserstoffionenkonzentration. Ihre Bedeutung für die Biologie und die Methoden ihrer Messung. Berlin: Julius Springer 1914. — Ders.: Die Wasserstoffionenkonzentration. 2. Aufl. Ebenda 1922. — **Nägler, K.:** Entwicklungsgeschichtliche Studien über Amöben. Arch. f. Protistenkunde **15**, 1—51. 1909. — **Nöller, W.:** Die Züchtung der tierischen Parasiten und Krankheitserreger auf künstlichen Nährböden. In: Kraus und Uhlenhuth, Handbuch der mikrobiologischen Technik **1**, 647—692. 1923. — Ders.: Die wichtigsten parasitischen Protozoen des Menschen und der Tiere. 1. Teil. Berlin: Schoetz 1922. — **Oehler, R.:** Flagellaten- und Ciliatenzucht auf reinem Boden. Arch. f. Protistenkunde **40**, 16—26. 1919. — Ders.: Gereinigte Ciliatenzucht. Ebenda **41**, 34—49. 1920. — **Ogata, M.:** Über die Reinkultur ge-

wisser Protozoen (Infusorien). Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh., Abt. I, Orig. **14**, 165—169. 1893. — **Omelianski, W.:** Über die Gärung der Cellulose. Ebenda, Abt. II **8**, 193. 1902. — **Pouchet, F. A.:** Embryogénie des Infusoires ciliés. Response aux observations de M. Coste. Cpt. rend. hebdom. des séances de l'acad. des sciences **59**, 276—283. 1864. — **Provazek, S. von:** Zur Kenntnis der Balantidiosis. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. **17**, Beih., 5—24 (371 bis 390). 1913. — **Reichenow, E.:** Den Wiederkäuerinfusorien verwandte Formen aus Gorilla und Schimpanse. Arch. f. Protistenkunde **41**, 1—33. 1920. — **Sangiori, G.:** Sulla cultura in vitro dei protozoi dell'intestino umano. Pathologica **10**, 255—258. 1918. — **Schewiakoff:** Über die Natur der sogenannten Exkretkörner der Infusorien. Cpt. rend. hebdom. des séances de l'acad. des sciences **57**, 32. — **Scheunert, A.:** Vergleichende Studien über den Eiweißabbau im Magen. Festschr. f. O. Wallach, Göttingen 1909, S. 484. Verlag von Vandenhoek und Ruprecht. — **Schmidt, W. J.:** Der neue, automatisch regulierende elektrische Heiztisch von E. Leitz. Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie **41**, 335—342. 1924. — **Schuberg, A.:** Die Protozoen des Wiederkäuermagens. Zool. Jahresber., Abt. f. Syst., Geogr. u. Morphol. d. Tiere **3**, 365—416. 1888. — **Schulze, P.:** Der Nachweis und die Verbreitung des Chitins mit einem Anhang über das komplizierte Verdauungssystem der Ophryoscoleciden. Zeitschr. f. Morphol. u. Ökol. d. Tiere **2**, 643—665. 1924. — **Senez, A.:** Un nuevo *Balantidium*. Bol. del. Labor. de Bacter. de Tucaman (Rep. Argentinia) **1**, 30—36 1918 — **Stålfors, H.:** Beiträge zur Kenntnis der Physiologie des Wiederkäuermagens. II. Die Reaktion des Panseninhaltes und der Exkremente. Arch. f. wiss. Tierheilk. **54**, 525. 1926. — **Stremnitzer, L.:** Die H-Ionenkonzentration im Psalterinhalt des Rindes. Vet.-med. Diss. Wien 1925. — **Tappeiner:** Untersuchungen über die Gärung der Cellulose, insbesondere über deren Lösung im Darmkanal. Zeitschr. f. Biol. **20**, 52—134. 1884. — Ders.: Die Gase des Verdauungsschlauches der Pflanzenfresser. Ebenda **19**, 228—279. 1893. — **Trier, H.:** Der Kohlehydratstoffwechsel der Panseninfusorien und die Bedeutung der grünen Pflanzenteile für diese Organismen. Zeitschr. f. vergl. Physiol. **4**, 305—330. 1926. — **Tron, W.:** Die Verwendung des Seitzschen Entkeimungsfilters zur Entkeimung von Rotlaufserum. Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh., Abt. I, Orig. **93**, 380. 1924. — **Walker, E. L.:** The parasitic amebae of the intestinal tract of man and other animals. Journ. of Med. Research. **17**, 379—459. 1908. — Ders.: The cultivation of the parasitic Flagellata and Ciliata of the intestinal tract. Ibid. **18**, 487—498. 1908. — Ders.: Sporulation in the parasitic Ciliata. Arch. f. Protistenkunde **17**, 297—306. 1909. — **Wester, J.:** Physiologie und Pathologie der Vormägen des Rindes. Berlin: Schoetz 1926. — **Ylppö, A.:** $P_H$-Tabellen, enthaltend ausgerechnet die Wasserstoffexponentwerte, die sich aus gemessenen Millivoltzahlen bei bestimmten Temperaturen ergeben. Gültig für die gesättigte Kalomel-Elektrode. Berlin: Julius Springer 1917.

# Lebenslauf.

Ich wurde am 31. August 1898 als Sohn des Gasthofbesitzers Albin Knoth und seiner Ehefrau Klara geb. Richter in Neukirchen im Erzgebirge geboren und evangelisch-lutherisch auf den Namen Max Karl getauft. Von 1905 bis 1910 besuchte ich die Volksschule und von 1910 bis zur Einziehung ins Heer am 3. Januar 1917 das Realgymnasium in Chemnitz. Am 10. Januar 1919 wurde ich als Leutnant d. Res. des Feldartillerie-Regiments Nr. 78 in Wurzen aus dem Heer entlassen und erhielt am 17. Februar 1919 durch ministerielle Verfügung das Reifezeugnis. Von 1919 bis 1923 studierte ich Veterinärmedizin an der Tierärztlichen Hochschule in Dresden, an der ich am 26. Juni 1923 die Approbation als Tierarzt erhielt und am 3. August 1923 zum Dr. med. vet. promovierte. Von 1924 bis 1927 studierte ich Zoologie an der Universität Rostock i. M. Seit 1. Juni 1924 bin ich Assistent im Landestierseuchenamt Rostock i. M.

Druck von Breitkopf & Härtel in Leipzig.